



Title	Presenilin 2 regulates the systolic function of heart by modulating Ca ²⁺ signaling
Author(s)	武田, 理宏
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46280
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 武 田 理 宏

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20066 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科情報伝達医学専攻

学 位 論 文 名 Presenilin 2 regulates the systolic function of heart by modulating Ca^{2+} signaling
(プレセニリン 2 は心筋でのカルシウムシグナリングを修飾し、心収縮能を調節する)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 堀 正二

(副査)
教 授 祖父江憲治 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕 Presenilin 2 (PS2) は早発性家族性アルツハイマー病 (FAD) の原因遺伝子の 1 つであり、その変異は FAD の原因となるアミロイド β 蛋白の増加、カルシウム (Ca) ホメオスターシス、小胞体ストレスに影響を与えることが報告されている。PS2 は哺乳類組織において心臓を含めた種々の臓器に発現しており、細胞内膜系、特に小胞体膜に局在することが知られている。しかし、PS2 の心臓での局在、役割は明らかでない。本研究の目的は PS2 ノックアウトマウス (PS2KO) を用い、心臓における PS2 の働きを明らかにすることである。

〔方法ならびに成績〕 PS2KO は正常に発育し、外見上大きな異常は認めなかった。Hematoxylin-Eosin 染色や Masson-Trichrome 染色を用いた組織学的検討では線維化を含む異常は認めなかった。心筋横断面積は PS2KO と野生型マウス (WT) で同等であり、心筋細胞肥大は認めなかった。また、心重量、左室重量、肺重量は両群で差を認めなかった。

次に血行動態の検討を行った。心拍数、左室収縮期圧、左室拡張末期圧、拡張能の指標である $-\text{dp}/\text{dt}$ は両群で有意差を認めなかった。しかし、心筋収縮能の指標である $+\text{dp}/\text{dt}$ は PS2KO で有意に上昇していた。

単離乳頭筋を用いて Ca トランジェント、等長性張力を測定した。Ca トランジェントは、Ca 受容発光蛋白であるエクオリンを用い計測した。PS2KO は WT に比し最大 Ca トランジェント、最大張力が有意に高かった。最大 Ca 濃度到達時間、最大張力到達時間、拡張期 Ca 濃度低下時間、筋弛緩時間は有意差を認めなかった。これらの事より、PS2KO で認めた収縮能の増加は最大 Ca トランジェントの増加により、筋張力が増した結果と考えられた。

最大 Ca トランジェントの増加は主に、筋小胞体 (SR) での Ca 貯蔵量と Ca 遊離チャネルである ryanodine receptor (RyR2) によって決定されと考えられる。そこで SR の Ca 貯蔵量をサポニンで処理した心筋を用い、カフェイン刺激で放出される Ca 量を測定することにより計測した。SR の Ca 貯蔵量は両群間で差を認めず、PS2KO で見られた最大 Ca トランジェントの増加は、PS2 が Ca 遊離チャネルに影響を与えているためと考えられた。

脳において、PS2 は RyR2 の調節蛋白として知られる Penta-EF-hand Ca 結合蛋白である sorcin (SOR) と結合する事が知られている。そこで、PS2 と SOR、RyR2 との結合について検討を行った。最初に PS2、RyR2、SOR を強

発現させた HEK293 細胞を用い、免疫沈降法を行った結果、3 者は互いに結合していた。マウス脳、心筋サンプルを用い同様の検討を行った結果、脳、心筋においても 3 者は結合していた。次にその局在を見るため、マウス心筋新鮮凍結切片を用い、免疫組織染色を行った。PS2 は心筋の Z 帯付近に局在し、その分布は RyR2、SOR と一致した。

次に Ca 濃度が PS2/RyR2/SOR の結合に与える影響を免疫沈降法で検討した。PS2/RyR2 は低 Ca 濃度で結合し、Ca 濃度増加と共にその結合は減少した。一方、PS2/SOR、RyR2/SOR の結合は Ca 濃度の増加と共に増加した。

最後に、Ca 濃度による PS2/RyR2/SOR の結合の変化が、乳頭筋で見られた最大 Ca トランジェント、最大張力の増加に影響を与えるか否か、細胞外 Ca 濃度を変化させることにより検討した。PS2/RyR2 が結合する条件である低 Ca 濃度では PS2KO が WT に比し、最大 Ca トランジェント、最大張力が増加していたが、解離する条件である高 Ca 濃度では最大 Ca トランジェント、最大張力は両群で有意差は認めなかった。

〔総括〕心筋において、PS2 は Z 帯に存在し、RyR2 や SOR と Ca 依存性に結合し、RyR2 からの Ca 遊離を制御することにより、心筋収縮力を抑制している。

論文審査の結果の要旨

Presenlin 2 (PS2) は早発型家族性アルツハイマー病の原因遺伝子の 1 つである。PS2 は哺乳類で心臓を含む各種臓器に発現しているが、心臓での役割は不明であった。

発表者は PS2 が心臓において、筋小胞体のカルシウム遊離チャンネルである Ryanodine receptor (RyR2) と結合していることを明らかとした。PS2 ノックアウトマウスは野生型マウスに比し、心収縮力が増大しており、その原因は筋小胞体からのカルシウム放出量が増加しているためであった。カルシウムシグナリング蛋白質の発現、小胞体内カルシウム貯蔵量は変化を認めないことより、カルシウム放出量の増加は PS2 が RyR2 の機能を調節しているためと考えられた。PS2 と RyR2 の結合は、低カルシウム濃度で増加し、高カルシウム濃度で減少した。PS2 ノックアウトマウスで見られた筋小胞体からのカルシウム放出量の増加は、細胞外カルシウム濃度が低い状態で認めたが、カルシウム濃度上昇に伴い消失した。これらにより、発表者は PS2 が心臓での興奮収縮連関の制御に働くことを示した。これらの知見は PS2 が心疾患発症の一機序となりうる事を示唆しており、学位授与に値すると考えられる。